

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

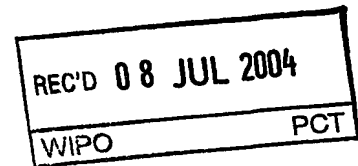
17. 5. 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 7 月 1 5 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 2 7 4 3 8 9
Application Number:
[ST. 10/C]: [J P 2 0 0 3 - 2 7 4 3 8 9]



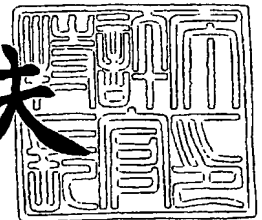
出 願 人 三井化学株式会社
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 6 月 1 8 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今 井 康 夫



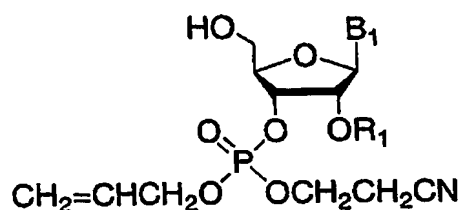
【書類名】 特許願
【整理番号】 P0002448
【提出日】 平成15年 7月15日
【あて先】 特許庁長官 殿
【発明者】
 【住所又は居所】 愛知県一宮市浅井町小日比野字上牧 1 2 1
 【氏名】 早川 芳宏
【特許出願人】
 【識別番号】 000005887
 【氏名又は名称】 三井化学株式会社
 【代表者】 中西 宏幸
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 005278
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 要約書 1

【書類名】 特許請求の範囲

【請求項 1】

一般式〔1〕〔化1〕

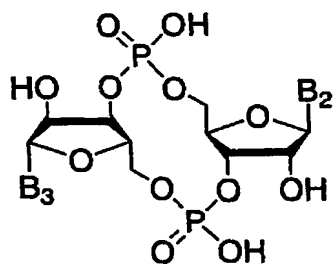
〔化1〕



〔1〕

(式中、R1は水酸基の保護基を表し、B1は保護されていても良い核酸塩基を表す。)で表されるヌクレオチドを縮合することにより、一般式〔2〕〔化2〕

〔化2〕



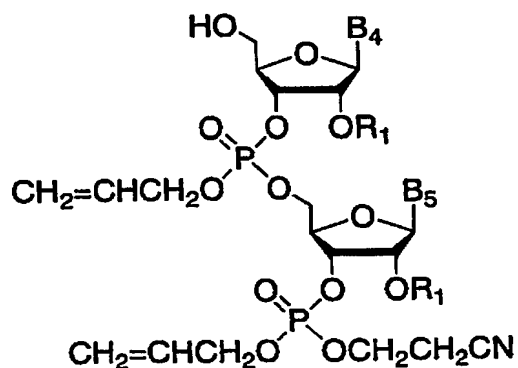
〔2〕

(式中、B2およびB3は各々独立して核酸塩基を表す。)で表される環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドまたはその塩を合成する方法。

【請求項 2】

合成中間体が、一般式〔3〕〔化3〕

〔化3〕



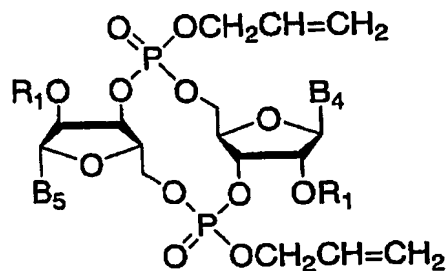
〔3〕

(式中、R1は前述と同義であり、B4およびB5は各々独立して保護されていても良い核酸塩基を表す。)で表されるジヌクレオチドであることを特徴とする請求項1に記載の合成方法。

【請求項 3】

合成中間体が、一般式〔4〕〔化4〕

【化 4】



〔 4 〕

(式中、R₁、B₄ および B₅ は前述と同義である。) で表される環状ビス (3' → 5') ジヌクレオチドであることを特徴とする請求項 1 に記載の合成方法。

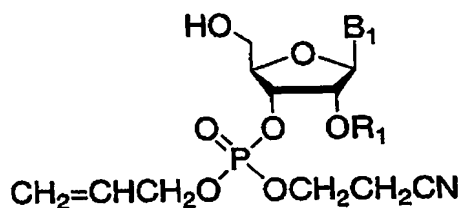
【請求項 4】

R₁ が *t*-ブチルジメチルシリル基であることを特徴とする請求項 1 から 3 の何れか一項に記載の合成方法。

【請求項 5】

一般式〔1〕 【化 5】

【化 5】



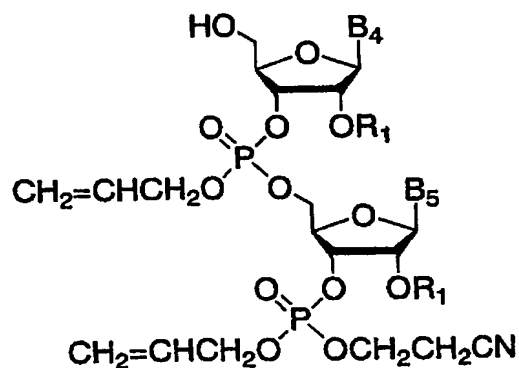
〔 1 〕

(式中、R₁ 及び B₁ は前述と同義である。) で表されるヌクレオチド。

【請求項 6】

一般式〔3〕 【化 6】

【化 6】



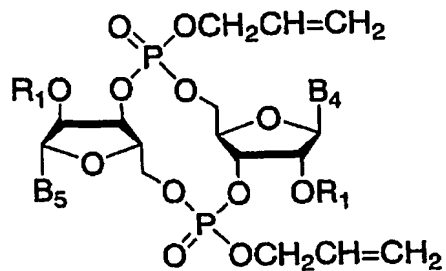
〔 3 〕

(式中、R₁、B₄ および B₅ は前述と同義である。) で表されるジヌクレオチド。

【請求項 7】

一般式〔4〕 【化 7】

【化 7】



〔 4 〕

(式中、R 1、B 4 および B 5 は前述と同義である。) で表される環状ビス (3' → 5') ジヌクレオチド。

【書類名】明細書

【発明の名称】環状ビスジヌクレオチドの合成方法

【技術分野】

【0001】

本発明は環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドの合成法に関する。さらに詳しくは、本発明は、ジヌクレオチドの分子内環化反応により環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドを合成する際、リン酸部位の保護基としてアリル基を用いることにより収率や操作性を改善した、工業的に実用的な合成方法に関する。

【0002】

環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドは、がん細胞分裂阻止などの生理活性を示すことから抗がん剤などの医薬品としての開発が期待される有用な化合物で、実用的な合成方法の開発が求められている。

【背景技術】

【0003】

環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドのひとつである環状ビス(3' → 5') ジグアニル酸(c G p G p)は、セルロース生合成を調節する機能性物質として古くから知られているが、最近さらにM o l t 4およびJ u r k a t細胞内に取り込まれるとCD4レセプター量を増加させ、細胞分裂を減少させる生物活性をもつ物質であることが解明された。がん細胞分裂を阻止できる可能性があることから、抗がん剤としての研究や臨床応用が期待されている。そのため、c G p G pに代表される環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドの大量供給が緊急に必要とされている。

【0004】

c G p G pの合成法としては、リン酸部位の保護基としてo-クロロフェニル基を用いた方法が既に報告されている。(Nature 1987, 325, p279; J. Biol. Chem. 1990, 265, p18993)しかし、環化反応の原料となるジヌクレオチドの合成収率が75% (過剰に必要な基質を基準とした場合には63%)と低く、実用的ではなかった。

【0005】

【非特許文献1】 Nature 1987, 325, p279; J. Biol. Chem. 1990, 265, p18993

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

従来の問題点を鑑み、環状ビス(3' → 5') ジヌクレオチドの合成に適用可能なリン酸部位の保護基を開発し、収率の向上した工業的に実用的な合成方法を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0007】

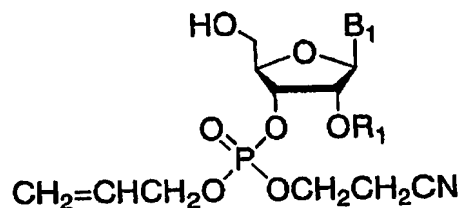
本発明者らは上記課題について鋭意検討した結果、リン酸部位の保護基としてアリル基が有用であることを見出し、本発明を完成した。

即ち、本発明は、

[1] 一般式 [1] [化2]

【0008】

【化1】



〔1〕

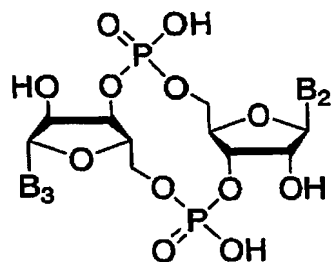
【0009】

(式中、R1は水酸基の保護基を表し、B1は保護されていても良い核酸塩基を表す。)
で表されるヌクレオチドを縮合することにより、

一般式〔2〕【化2】

【0010】

【化2】



〔2〕

【0011】

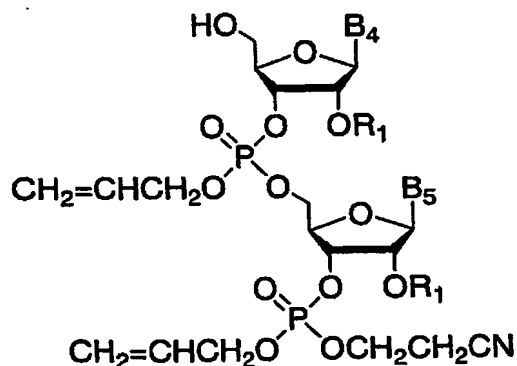
(式中、B2およびB3は各々独立して核酸塩基を表す。) で表される環状ビス (3' → 5') ジヌクレオチドまたはその塩を合成する方法であり、

〔2〕 合成中間体が、

一般式〔3〕【化3】

【0012】

【化3】



〔3〕

【0013】

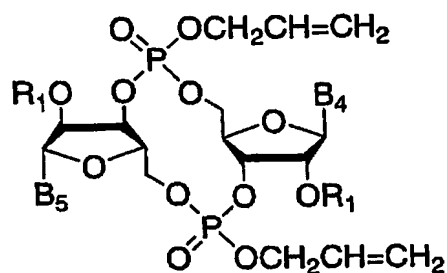
(式中、R1は前述と同義であり、B4およびB5は各々独立して保護されていても良い核酸塩基を表す。) で表されるジヌクレオチドであることを特徴とする〔1〕に記載の合成方法であり、

〔3〕 合成中間体が、

一般式〔4〕【化4】

【0014】

【化4】



〔4〕

【0015】

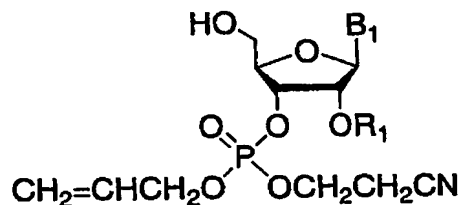
(式中、R1、B4およびB5は前述と同義である。)で表される環状ビス(3'→5')ジヌクレオチドであることを特徴とする〔1〕に記載の合成方法であり、

〔4〕R1が α -ブチルジメチルシリル基であることを特徴とする〔1〕から〔3〕の何れか一項に記載の合成方法であり、

〔5〕一般式〔1〕【化5】

【0016】

【化5】



〔1〕

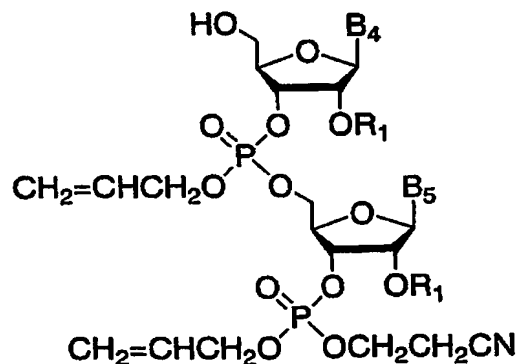
【0017】

(式中、R1は前述と同義であり、B1は保護されていても良い核酸塩基を表す。)で表されるヌクレオチドであり、

〔6〕一般式〔3〕【化6】

【0018】

【化6】



〔3〕

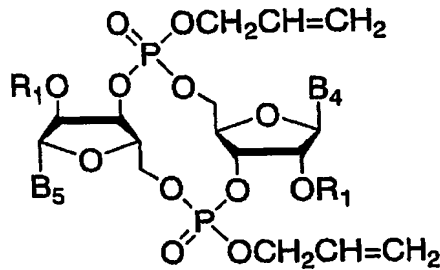
【0019】

(式中、R1、B4およびB5は前述と同義である。)で表されるジヌクレオチドであり

[7] 一般式 [4] [化7]

【0020】

【化7】



[4]

【0021】

(式中、R1、B4およびB5は前述と同義である。)で表される環状ビス(3' → 5')ジヌクレオチドである。

【発明の効果】

【0022】

本発明により、環状ビス(3' → 5')ジヌクレオチドを収率良く合成でき、工業的に有用な方法を提供できる。環状ビス(3' → 5')ジヌクレオチドはがん細胞分裂を阻止できる可能性があることから、抗がん剤としての研究や臨床応用が期待されている。

【発明を実施するための最良の形態】

【0023】

以下、本発明を詳細に説明する。

【0024】

一般式[1]で表されるヌクレオチドにおいて、R1における水酸基の保護基とは、通常用いられる水酸基の保護基が使用可能で、加水素分解、加水分解、光分解のような化学的方法によって除去される保護基を指す。そのような基としては、ホルミル基、脂肪族アシル基、芳香族アシル基、シリル基、シリルオキシメチル基、アルコキシアルキル基、シリル基で置換されたアルコキシアルキル基、ハロゲン化アルキル基、アラルキル基、アルコキシカルボニル基、アラルキルオキシカルボニル基、オルトエステル基などが挙げられる。好ましくは、シリル基、シリルオキシメチル基、シリル基で置換されたアルコキシアルキル基、オルトエステル基である。シリル基とは、たとえばトリメチルシリル基、トリエチルシリル基、トリイソプロピルシリル基、t-ブチルジメチルシリル基などがあげられる。シリルオキシメチル基とは、たとえばトリメチルシリルオキシメチル基、トリエチルシリルオキシメチル基、トリイソプロピルシリルオキシメチル基、t-ブチルジメチルシリルオキシメチル基などがあげられる。シリル基で置換されたアルコキシアルキル基とは、たとえば2-トリメチルシリルエチルオキシメチル基などがあげられる。オルトエステル基とは、たとえばジメトキシメチル基、ジエトキシメチル基、ビス(2-ヒドロキシエチル)メチル基、ビス(2-アセトキシエチル)メチル基などがあげられる。

【0025】

B2およびB3における核酸塩基とは、ピリミジン、プリン、アザプリンおよびデアザプリンなどの天然または非天然型の塩基類を示し、それらはハロゲン原子、炭素数1から4のアルキル基、炭素数1から4のハロアルキル基、炭素数1から4のアルケニル基、炭素数1から4のハロアルケニル基、炭素数1から4のアルキニル基、アミノ基、炭素数1から4のアルキルアミノ基、水酸基、ヒドロキシアミノ基、アミノキシ基、炭素数1から4のアルキルオキシ基、メルカプト基、炭素数1から4のアルキルチオ基、アリール基、アリールオキシ基またはシアノ基によって置換されていてもよい。

【0026】

置換基としてのハロゲン原子としては、塩素、フッ素、ヨウ素、臭素が例示される。ア

ルキル基としては、メチル基、エチル基、1-プロピル基などが例示される。ハロアルキル基としては、フルオロメチル基、ジフルオロメチル基、トリフルオロメチル基、プロモメチル基、プロモエチル基などが例示される。アルケニル基としては、ビニル基、アリル基、3-ブテニル基などが例示される。ハロアルケニル基としては、プロモビニル基、クロロビニル基などが例示される。アルキニル基としては、エチニル基、プロピニル基などが例示される。アルキルアミノ基としては、メチルアミノ、エチルアミノなどが例示される。アルキルオキシ基としては、メトキシ基、エトキシ基などが例示される。アルキルチオ基としては、メチルチオ基、エチルチオ基などが例示される。アリール基としては、フェニル基；メチルフェニル基、エチルフェニル基などの炭素数1～4のアルキル基を有するアルキルフェニル基；メトキシフェニル基、エトキシフェニル基などの炭素数1～4のアルキルオキシ基を有するアルコキシフェニル基；ジメチルアミノフェニル基、ジエチルアミノフェニル基などの炭素数1～4のアルキルアミノ基を有するアルキルアミノフェニル基；クロロフェニル基、プロモフェニル基などのハロゲノフェニル基などが例示される。

【0027】

ピリミジン塩基を具体的に例示すれば、シトシン、ウラシル、5-フルオロシトシン、5-フルオロウラシル、5-クロロシトシン、5-クロロウラシル、5-プロモシトシン、5-プロモウラシル、5-ヨードシトシン、5-ヨードウラシル、5-メチルシトシン、5-メチルウラシル（チミン）、5-エチルシトシン、5-エチルウラシル、5-フルオロメチルシトシン、5-フルオロウラシル、5-トリフルオロシトシン、5-トリフルオロウラシル、5-ビニルウラシル、5-プロモビニルウラシル、5-クロロビニルウラシル、5-エチニルシトシン、5-エチニルウラシル、5-プロピニルウラシル、ピリミジン-2-オン、4-ヒドロキシアミノピリミジン-2-オン、4-アミノオキシピリミジン-2-オン、4-メトキシピリミジン-2-オン、4-アセトキシピリミジン-2-オン、4-フルオロピリミジン-2-オン、5-フルオロピリミジン-2-オンなどが挙げられる。

【0028】

プリン塩基を具体的に例示すれば、プリン、6-アミノプリン（アデニン）、6-ヒドロキシプリン、6-フルオロプリン、6-クロロプリン、6-メチルアミノプリン、6-ジメチルアミノプリン、6-トリフルオロメチルアミノプリン、6-ベンゾイルアミノプリン、6-アセチルアミノプリン、6-ヒドロキシアミノプリン、6-アミノオキシプリン、6-メトキシプリン、6-アセトキシプリン、6-ベンゾイルオキシプリン、6-メチルプリン、6-エチルプリン、6-トリフルオロメチルプリン、6-フェニルプリン、6-メルカプトプリン、6-メチルメルカプトプリン、6-アミノプリン-1-オキシド、6-ヒドロキシプリン-1-オキシド、2-アミノ-6-ヒドロキシプリン（グアニン）、2, 6-ジアミノプリン、2-アミノ-6-クロロプリン、2-アミノ-6-ヨードプリン、2-アミノプリン、2-アミノ-6-メルカプトプリン、2-アミノ-6-メチルメルカプトプリン、2-アミノ-6-ヒドロキシアミノプリン、2-アミノ-6-メトキシプリン、2-アミノ-6-ベンゾイルオキシプリン、2-アミノ-6-アセトキシプリン、2-アミノ-6-メチルプリン、2-アミノ-6-サイクロプロピルアミノメチルプリン、2-アミノ-6-フェニルプリン、2-アミノ-8-プロモプリン、6-シアノプリン、6-アミノ-2-クロロプリン（2-クロロアデニン）、6-アミノ-2-フルオロプリン（2-フルオロアデニン）などが挙げられる。

【0029】

アザプリン塩基およびデアザプリン塩基を具体的に例示すれば、6-アミノ-3-デアザプリン、6-アミノ-8-アザプリン、2-アミノ-6-ヒドロキシ-8-アザプリン、6-アミノ-7-デアザプリン、6-アミノ-1-デアザプリン、6-アミノ-2-アザプリンなどが挙げられる。

【0030】

B1、B4およびB5における保護された核酸塩基とは、上述の核酸塩基のアミノ基が

通常用いられるアミノ基の保護基で保護されたものを指す。保護基としては、例えばホルミル基、アセチル基、プロピオニル基、ブチリル基、イソブチリル基、バレリル基などの脂肪族カルボニル基類、フェノキシアセチル基などのアリールオキシ基で置換された脂肪族カルボニル基類、あるいはベンゾイル基、トルオイル基などの芳香族カルボニル基類などが例示される。

【0031】

一般式〔2〕で表される環状ビス（3' → 5'）ジヌクレオチドの塩とは、通常リン酸と塩を形成するような塩基から成る塩なら限定されないが、アルカリ金属、アルカリ土類金属あるいは有機アミンなどの塩が好ましい。アルカリ金属の塩としては、たとえばリチウム塩、ナトリウム塩、カリウム塩などがあげられる。アルカリ土類金属の塩としては、たとえばマグネシウム塩、カルシウム塩、バリウム塩などがあげられる。有機アミンの塩としては、たとえばトリエチルアンモニウム塩、トリ（*n*-ブチル）アンモニウム塩などの3級アミン塩、ジエチルアンモニウム塩、ジシクロヘキシルアンモニウム塩などの2級アミン塩、アンモニウム塩、*n*-ブチルアンモニウム塩、シクロヘキシルアンモニウム塩などの1級アミン塩、テトラ（*n*-ブチル）アンモニウム塩、トリメチルベンジルアンモニウム塩などの4級アミン塩などがあげられる。

【0032】

一般式〔1〕で表されるヌクレオチドを縮合して一般式〔2〕で表される環状ビス（3' → 5'）ジヌクレオチドを得る際の縮合方法としては、通常のリン酸結合を合成するのに用いられる方法ならば特に限定されないが、ホスファイト結合を経てから酸化する方法またはリン酸ジエステルを経てから縮合する方法が好ましい。ホスファイト結合をつくる際に用いる縮合活性化剤としては、テトラゾール、4, 5-ジシアノイミダゾール、イミダゾリウム塩、ベンズイミダゾール塩などがあげられる。過塩素酸イミダゾリウムが特に好ましい。反応温度としては、-10℃から溶媒の沸点で可能だが、特に10から40℃が好ましい。反応時間としては、10分間から36時間で可能だが、特に20分間から2時間が好ましい。ホスファイト結合を酸化してリン酸エステルにする際の酸化剤としては、通常重リン酸の酸化に用いられるものなら限定されないが、特に2-ブタノン パーオキシドが好ましい。

【0033】

リン酸ジエステルを縮合してリン酸トリエステルにする際の縮合剤としては、塩化メシル、塩化トシル、塩化ベンゼンスルフォニル、塩化トリメチルベンゼンスルフォニル、塩化トリイソプロピルベンゼンスルフォニルなどがあげられる。特に塩化トリイソプロピルベンゼンスルフォニルが好ましい。

【0034】

縮合の際に塩基を共存させても良い。用いられる塩基としては、トリエチルアミン、エチルジイソプロピルアミン、ピリジン、ルチジン、イミダゾール、*N*-メチルイミダゾール、*N*-メチルベンズイミダゾールなどがあげられる。特に*N*-メチルイミダゾールが好ましい。

【0035】

反応温度としては、-10℃から溶媒の沸点で可能だが、特に10から40℃が好ましい。反応時間としては、10分間から36時間で可能だが、特に1時間から20時間が好ましい。

【0036】

縮合の際には、水分の影響を少なくするために脱水剤を添加して行うこともできる。脱水剤としては、通常反応に用いられるものが使用できるが、特にモルキュラーシーブスが好ましい。

【0037】

反応溶媒としては、縮合に影響を与えない限り、限定されるものではないが、非プロトン性の溶媒が好ましく、特にアセトニトリル、ジクロロメタン、THFが好ましい。

【実施例1】

【0038】

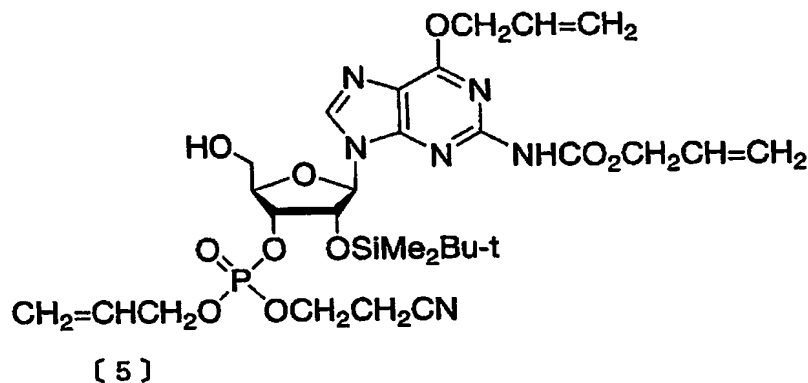
以下に実施例をあげて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらによって限定されるものではない。

【0039】

N^2 -(アリルオキシカルボニル)- O^6 -アリル-2'- O -(*t*-ブチルジメチルシリル)-5'- O -(4,4'-ジメトキシトリチル)グアノシン 3'- O -(アリル 2-シアノエチルホスフェート) (式〔5〕)の合成〔化8〕

【0040】

【化8】



【0041】

N^2 -(アリルオキシカルボニル)- O^6 -アリル-2'- O -(*t*-ブチルジメチルシリル)-5'- O -(4,4'-ジメトキシトリチル)グアノシン 3'- O -(アリル *N,N*-ジイソプロピルホスフォロアミダイト) (Org. Lett. 2001, 3, p 815に記載の方法で合成した。) 2.0 g (2.0 mmol)、モルキュラーシーブス 3A 200 mgの乾燥アセトニトリル溶液に2-シアノエタノール 0.16 mL (2.4 mmol)を添加して30分間室温で攪拌後、過塩素酸イミダゾリウム 0.67 g (4.0 mmol)を加えて30分間攪拌した。さらに2-ブタノン パーオキシドの 1.0 Mジメチルフタレート/トルエン溶液 4 mLを加えて5分間攪拌した。モルキュラーシーブス 3Aをろ去後、酢酸エチルを加えて飽和重曹水および飽和食塩水で洗浄、乾燥して減圧濃縮した。残渣をジクロロメタン 20 mLに溶解し、氷冷攪拌下にジクロロ酢酸 3.3 mL (40 mmol)を滴下して5分間攪拌した。反応溶液を飽和重曹水 100 mLに滴下し、有機層を分液後、水層をジクロロメタンで抽出した。有機層を合わせて硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (シリカゲル 40 g、ヘキサン：酢酸エチル (1:1) ~ヘキサン：酢酸エチル：メタノール (10:10:1))で精製し、表題化合物 1.38 gを無色アモルファスとして得た。収率 95%。

【0042】

式〔5〕: IR(CH₂Cl₂): cm⁻¹ 3420, 3048, 2305, 1757, 1607, 1524, 1462, 1412, 1294, 1190, 1038, 756; ¹H NMR (CDCl₃) δ -0.27 (s, 3H), -0.03 (s, 3H), 0.74 (s, 9H), 2.94 (t, J= 6.0 Hz, 2H), 3.85-3.97 (m, 2H), 4.30-4.43 (m, 3H), 4.70 (m, 4H), 5.00 (m, 1H), 5.08-5.10 (m, 2H), 5.24-5.52 (m, 7H), 6.00-6.20 (m, 4H), 8.39 (s, 1H); ³¹P NMR (CD₃OD) δ -4.69, -4.54.

【実施例2】

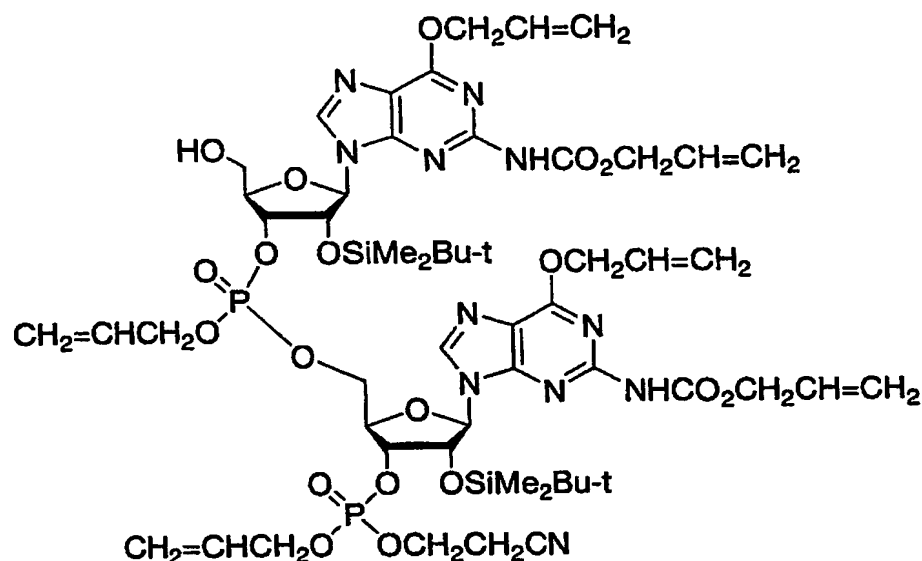
【0043】

アリル [N²-(アリルオキシカルボニル)- O^6 -アリル-2'- O -(*t*-ブチルジメチルシリル)-5'- O -(4,4'-ジメトキシトリチル)グアニル] (3'→5') [N²-(アリルオキシカルボニル)- O^6 -アリル-2'- O -(*t*-ブチルジ

メチルシリル) グアノシン 3'-O-(アリル 2-シアノエチルホスフェート)] (式〔6〕) の合成 [化9]

【0044】

【化9】



〔6〕

【0045】

N²-(アリルオキシカルボニル)-O⁶-アリル-2'-O-(tert-ブチルジメチルシリル)-5'-O-(4,4'-ジメトキシトリチル) グアノシン 3'-O-(アリル N,N-ジイソプロピルホスフォロアミダイト) 1.6 g (1.6 mmol)、式〔5〕の化合物 1.1 g (1.6 mmol)、モルキュラーシープス 3A 0.2 g の乾燥アセトニトリル溶液 15 mL を室温で 30 分間攪拌後、過塩素酸イミダゾリウム 0.54 g (3.2 mmol) を加えて 30 分間攪拌した。さらに 2-ブタノン パーオキシドの 1.0 M ジメチルフタレート/トルエン溶液 3.2 mL を加えて 5 分間攪拌した。モルキュラーシープス 3A をろ去後、減圧濃縮した。残渣をジクロロメタン 20 mL に溶解し、氷冷攪拌下にジクロロ酢酸 3.3 mL (40 mmol) を滴下して 5 分間攪拌した。反応溶液を飽和重曹水 100 mL に滴下し、有機層を分液後、水層をジクロロメタンで抽出した。有機層を合わせて硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮し、濃縮残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (シリカゲル 40 g、ヘキサン:酢酸エチル (1:1) ~ヘキサン:酢酸エチル:メタノール (20:20:1) で精製し、表題化合物 1.95 g (ジアステレオマー混合物) を無色アモルファスとして得た。収率 94%。

【0046】

式〔6〕: ¹H NMR (CDCl₃) δ -0.36-0.03 (m, 12H), -0.68-0.77 (m, 18H), 1.78 (br s, 1H), 2.79-2.81 (m, 2H), 3.79-3.96 (m, 4H), 4.30-4.36 (m, 4H), 4.48-4.71 (m, 14H), 4.99-5.50 (m, 14H), 5.75-6.19 (m, 8H), 7.26-8.67 (m, 4H); ³¹P NMR (CD₃OD) δ -1.32, -1.24, -1.11, -1.05, -0.88, -0.81; HRMS (MALDI⁺) calcd for C₅₅H₈₃N₁₁O₁₉P₂Si₂⁺ (M+H⁺) 1318.4797, found 1318.5267.

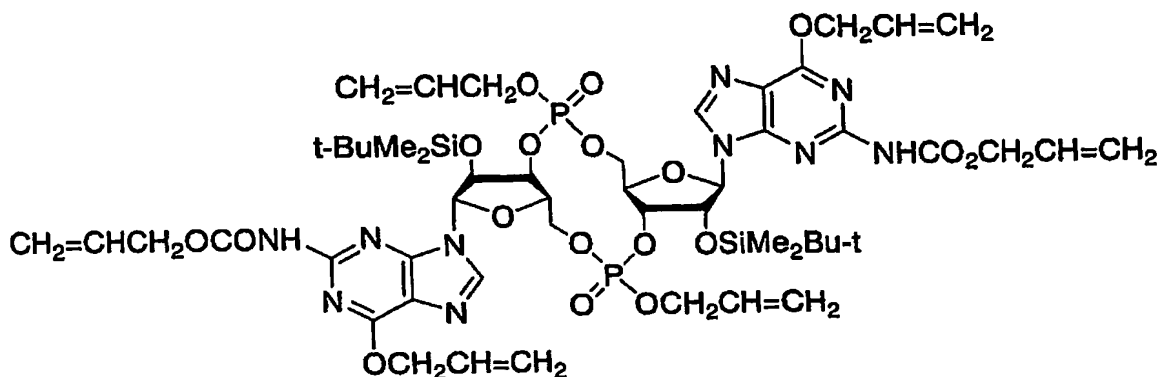
【実施例 3】

【0047】

環状ビス (3'-5') [N²-(アリルオキシカルボニル)-O⁶-アリル-2'-O-(tert-ブチルジメチルシリル) グアニル酸] ジアリル エステル (式〔7〕: ジアステレオマー [7a] および [7b] の混合物) の合成 [化10]

【0048】

【化10】



〔7〕

【0049】

式〔6〕の化合物 0.66 g (0.5 mmol) のメタノール 10 mL 溶液に 28% アンモニア水 1 mL を滴下し、室温で 30 分間攪拌した。減圧濃縮後、さらにトルエン 20 mL を加えて減圧濃縮 (3 回) した。残渣を THF 100 mL に溶解し、モルキュラーシープス 4 A を加えて脱水後、N-メチルイミダゾール 0.08 mL (1.0 mmol) および塩化トリイソプロピルベンゼンスルホニル 0.3 g (1.0 mmol) を加えて室温で 20 時間攪拌した。反応液を減圧濃縮して得た残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (シリカゲル 40 g、ヘキサン：酢酸エチル (2:1) ~ ヘキサン：酢酸エチル：メタノール (30:30:1) で精製し、表題化合物 0.47 g (ジアステレオマー〔7a〕 270 mg および〔7b〕 200 mg) を無色アモルファスとして得た。収率 75%。

【0050】

〔7a〕 ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.31, -0.21, -0.03, 0.04 (4s's, 12H), 0.76 (s, 18H), 4.03-4.09 (m, 2H), 4.26-4.34 (m, 2H), 4.54-4.69 (m, 8H), 4.74-5.86 (m, 4H), 4.97-5.15 (m, 6H), 5.21-5.52 (m, 12H), 5.64-5.68 (m, 1H), 5.74-5.82 (m, 3H), 5.94-6.01 (m, 4H), 6.08-6.18 (m, 2H), 7.53 (s, 1H), 7.78 (s, 1H), 7.81 (s, 1H), 8.03 (s, 1H); ^{31}P NMR (CDCl_3) δ -2.31, 1.91; HRMS (ESI^+) calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{77}\text{N}_{10}\text{O}_{18}\text{P}_2\text{Si}_2^+$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 1247.4426, found 1247.4496.

【0051】

〔7b〕 ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.22, 0.08 (2s's, 12H), 0.74 (s, 18H), 4.07 (m, 2H), 4.48-4.51 (m, 2H), 4.65-4.68 (m, 8H), 4.96 (q, $J=11$ Hz, 2H), 5.03-5.13 (m, 4H), 5.19-5.58 (m, 16H), 5.77 (d, $J=7.0$ Hz, 1H), 5.93-5.97 (m, 4H), 6.11-6.17 (m, 2H), 7.78 (s, 2H), 7.85 (s, 2H); ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 1.50; HRMS (ESI^+) calcd for $\text{C}_{52}\text{H}_{77}\text{N}_{10}\text{O}_{18}\text{P}_2\text{Si}_2^+$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 1247.4426, found 1247.4435.

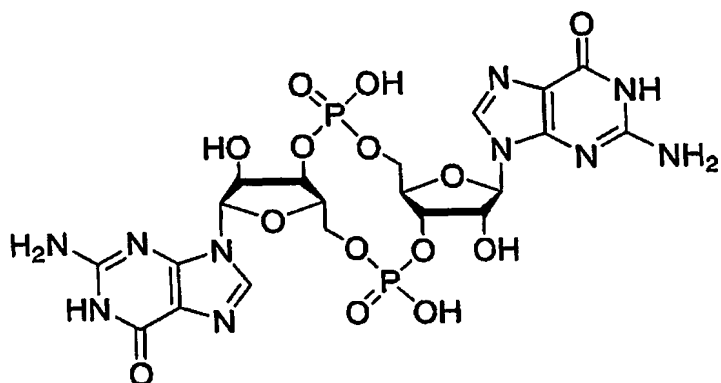
【実施例 4】

【0052】

環状ビス (3' - 5') グアニル酸 (式〔8〕) の合成【化11】

【0053】

【化11】



〔8〕

【0054】

式〔7〕の化合物50mg (0.04mmol)のTHF溶液1.6mLにトリフェニルフォスフィン16mg (0.060mmol)、*n*-ブチルアミン0.049mL (0.48mmol)、ギ酸0.018mL (0.48mmol)およびPd₂[(C₆H₅CH=CH)₂CO]₃·CHCl₃ 12mg (0.012mmol)を添加し、室温で10分間攪拌した。酢酸エチル10mLを加えて得た析出物をろ取し、減圧乾燥した。得られた白色粉末にトリエチルアミン/3HF錯体0.3mLを加え、室温で12時間攪拌した。反応液30μLを0.1M Na₂HPO₄水溶液40μLと重水500μLに溶解し、³¹P NMRを測定したところ、反応収率77%であった。測定後、反応液と合わせ、1mM酢酸アンモニウム水溶液1mLを加えて30~40℃で攪拌した。析出物を遠心分離し、HPLCで精製して表題化合物12mgを得た。収率40%。

【0055】

[HPLC条件]

カラム: COSMOSIL 5C₁₈-AR-300 (25φ×200mm)

溶離液: A液、1mM酢酸アンモニア水溶液; B液、0.2mM酢酸アンモニア/水-アセトニトリル (20:80) 溶液

グラジエント条件:

時間 (分)	0	8	55	63
B %	0	0	60	100

検出波長: 254nm、流速: 1.0mL/分

【0056】

式〔8〕¹H NMR (D₂O) δ 4.04-4.06 (m, 2H), 4.38-4.44 (m, 4H), 5.08 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 6.12 (s, 2H), 8.25 (s, 2H); ¹³C NMR (D₂O) δ 62.8, 70.9, 73.7, 80.8, 90.6, 116.4, 136.9 (weak), 150.4 (weak), 154.1, 157.8; ³¹P NMR (D₂O) δ -0.86; HR MS (ESI⁻) calcd for C₂₀H₂₃N₁₀O₁₈P₂⁻ (M-H⁻) 689.0876, found 689.0853.

【書類名】要約書

【要約】

【課題】抗癌効果が期待される化合物である環状ビス（3' → 5'）ジヌクレオチドの効率的な製造方法を提供する。従来は、過剰な基質が必要となるなど収率が低く、工業的な生産において制約が大きかった。

【解決手段】リン酸部位の保護基としてO-クロロフェニルに代えてアリル基を用いることにより表題化合物を高い収率で合成することが出来る。

【効果】環状ビス（3' → 5'）ジヌクレオチドの合成に適用可能なリン酸部位の保護基を開発し、収率の向上した工業的に実用的な合成方法を提供できる。

【選択図】なし

特願 2 0 0 3 - 2 7 4 3 8 9

出 願 人 履 歴・情 報

識別番号

[0 0 0 0 0 5 8 8 7]

1. 変更年月日

1 9 9 7 年 1 0 月 1 日

[変更理由]

名称変更

住 所

東京都千代田区霞が関三丁目 2 番 5 号

氏 名

三井化学株式会社

2. 変更年月日

2 0 0 3 年 1 1 月 4 日

[変更理由]

住所変更

住 所

東京都港区東新橋一丁目 5 番 2 号

氏 名

三井化学株式会社